

高浓度 CO₂ 胁迫对软枣猕猴桃贮藏期间细胞壁代谢的影响

陈曦冉¹, 张 鹏^{2,3}, 贾晓昱^{2,3}, 李江阔^{2,3*}

(¹ 沈阳农业大学食品学院 沈阳 110866

² 天津市农业科学院农产品保鲜与加工技术研究所 天津 300384

³ 国家农产品保鲜工程技术研究中心(天津) 农业农村部农产品贮藏保鲜重点实验室
天津市农产品采后生理与贮藏保鲜重点实验室 天津 300384)

摘要 为研究贮藏期间高浓度 CO₂ 胁迫对软枣猕猴桃细胞壁代谢的影响,以“龙成二号”为试验材料,以微环境气调箱为载体,分别粘贴气调元件 A(CK2)、气调元件 B(TR),以不粘贴气调元件为 CK1,研究高浓度 CO₂ 胁迫对冷藏期间果实果皮强度、细胞壁多糖、细胞壁降解酶及活性氧(ROS)的影响。在 60 d 时分析不同处理组果实果皮微观结构的差异。结果表明:冷藏过程中,CK2 组中形成适于软枣猕猴桃贮藏的环境(O₂ 含量 17.00%~20.92%,CO₂ 含量 1.63%~2.78%),而 TR 组形成高浓度 CO₂ 胁迫的贮藏环境(O₂ 含量 11.22%~15.55%,CO₂ 含量 9.00%~11.93%)。与 CK1 和 CK2 相比,TR 组可阻碍果皮强度的降低,影响原果胶、纤维素、半纤维素含量的正常下降,抑制水溶性果胶的升高,降低多聚半乳糖醛酸酶(PG)、纤维素酶(C_x)、β-半乳糖苷酶(β-Gal)及淀粉酶活性,加快超氧阴离子(O₂⁻)活性、过氧化氢(H₂O₂)、丙二醛(MDA)含量及相对电导率的上升;同时果皮细胞结构破坏严重,表皮粗糙凌乱,细胞间隙增大,组织轮廓模糊紊乱。分析表明,TR 组软枣猕猴桃贮藏期间环境 CO₂ 含量超过耐受阈值,引起果实僵直,硬度下降缓慢,影响后熟进程,细胞壁多糖代谢转化受到抑制,组织内自由基大量积累,膜脂过氧化,细胞结构被破坏,丧失商品性。

关键词 软枣猕猴桃; CO₂ 伤害; 细胞壁; 超微结构

文章编号 1009-7848(2023)03-0278-12 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.03.029

软枣猕猴桃(*Actinidia arguta*),果型小巧,皮薄且多汁,整体呈翠绿色,同时富含多种营养物质,因其维生素 C 含量远超于其它类型水果,故具有较高的抗氧化能力^[1-3]。鲜食为软枣猕猴桃最广泛的食用方法,其表面光滑、无绒毛,贮运时易失水皱缩、软化、腐烂^[4-5],同时活性氧积累引起细胞壁过氧化,加速果实衰老^[6-7],缩短贮藏期,引起品质下降,造成经济损失。

自发气调包装(MAP)是依靠果实自身的呼吸作用和包装透气性,在贮藏期间形成低 O₂ 和高 CO₂ 的环境^[8-10],进而推迟果实后熟衰老进程。适宜的气体比例在满足果实正常基本代谢活性的同时,降低呼吸速率^[11],提高保鲜效果^[12]。而长期不适宜的贮藏气体环境可使果实发生高 CO₂ 中毒或低 O₂ 伤害,其中高浓度 CO₂ 胁迫引起果实褐变、代

谢失调并伴随乙醇、乙醛等有毒物质的产生,造成进一步的伤害^[13-15]。Bahar 等^[16]研究发现,在 15 kPa CO₂ 条件下,无花果出现 CO₂ 损伤,内部组织变暗,果皮出现破损。Chen 等^[17]发现高浓度 CO₂ 增加了鲜切蒜薹组织内乙醇含量的积累。王雷等^[18]研究表明,当 O₂ 浓度小于 10%,CO₂ 大于 5%时,富士苹果出现 CO₂ 伤害,果实膜脂过氧化严重,膜结构受到破坏。Zhang 等^[19]发现在 10%O₂、10%CO₂ 气调环境下,会引起石榴皮 H₂O₂ 和 MDA 的突然升高,降低抗氧化酶活性。MAP 为软枣猕猴桃常用贮藏手段,当 CO₂ 体积分数过高时很容易出现生理代谢失调,引起高浓度 CO₂ 伤害症状。

目前,针对高浓度 CO₂ 伤害的研究主要集中在苹果、梨等大宗水果,对软枣猕猴桃的研究鲜有报道。本研究采用微环境气调贮藏软枣猕猴桃,研究高浓度 CO₂ 气体组分对果实贮藏期间细胞壁代谢及超微结构的影响,为果实合理气调保鲜贮藏提供理论参考。

收稿日期: 2022-03-06

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0401303);

甘肃省科技计划重大项目(21ZD4NA016)

第一作者: 陈曦冉,女,硕士生

通信作者: 李江阔 E-mail: lijkuo@sina.com

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料与试剂 软枣猕猴桃于2020年9月22日采自辽宁省丹东市,品种为“龙成二号”,挑选个体均一、无伤病、成熟度(可溶性固形物含量6.5%~7.0%)一致的果实为试材。原果胶含量试剂盒、可溶性果胶含量试剂盒、植物纤维素试剂盒、植物半纤维素试剂盒,上海邦奕生物科技有限公司;O₂⁻试剂盒、H₂O₂试剂盒,南京建成生物科技有限公司。

1.1.2 设备与仪器 气调箱(规格:28 cm×22 cm×12 cm)箱体两侧各设有3个通风口(长×宽为20 mm×15 mm,间距15 mm)并配备气调元件(材质:PE透气膜,厚度0.02 mm,因透气孔数目不同,区分为A、B两个元件),宁波国嘉农产品保鲜包装技术有限公司;Sigma3-30K型高速离心机,德国SIGMA离心机有限公司;Check Piont II便携式残氧仪,丹麦Dansensor公司;DDS-307A型电导率仪,上海仪电科学仪器仪表有限公司;Synergy H1全功能微孔板检测仪酶标仪,美国伯腾仪器有限公司;TU-1810ASPC紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;TA.XT.Plus物性仪,英国SMS公司;MC1000型离子溅射仪、SU810型扫描电子显微镜,株式会社日立制作所。

1.2 方法

1.2.1 处理方法 果实园内采摘后筛选,基地冷库内预冷,采用冷链物流车(0~4℃)12 h内运回天津实验室,在冰温库[(-0.5±0.3)℃]开盖预冷12 h后分装处理。设置3个处理,CK1处理组不粘贴气调元件,CK2处理组粘贴气调元件A,TR处理组粘贴气调元件B,预冷结束后封盖贮藏。每组处理各15箱,每箱约重2.2 kg,测定周期60 d,每15 d各取出3箱果实测定相关指标。

1.2.2 测定指标与方法

1.2.2.1 气体含量及果皮强度 微环境气体含量使用残氧仪测定;果皮强度采用TA.XT.Plus物性仪测定,探头型号P/2,直径2 mm,测试速度2.00 mm/s,测定深度10 mm,最小感知力5 g。

1.2.2.2 细胞壁多糖

1) 原果胶含量的测定 称取样品0.1 g,加入1 mL提取液1,于90℃恒温水浴浸提30 min,冷

却后5 000×g 25℃离心10 min,去除上清液,沉淀中加入1 mL提取液重复操作1次,离心后去掉上清液,沉淀中加入提取液2,于90℃恒温水浴水解1 h,冷却后8 000×g,25℃离心15 min,取上清液在波长530 nm处测定,结果以μmol/g表示。

2) 水溶性果胶含量的测定 称取0.1 g样品,加入1 mL 80%乙醇,95℃水浴20 min,冷却至室温,离心,弃上清液,沉淀中分别加入1.5 mL 80%乙醇和丙酮清洗1遍,弃上清液,沉淀中加入试剂1浸泡15 h,弃上清,沉淀干燥。称取干物质3 mg,加入1 mL试剂2,8 000×g 4℃ 10 min匀浆,取上清,在波长530 nm处测定,结果以μmol/g表示。

3) 纤维素、半纤维素含量测定 采用试剂盒,反应体系包括样品稀释液40 μL,待测样品及酶标试剂各10 μL,37℃温浴60 min后用清洗剂重复清洗5次,依次加入显色剂A和B,37℃避光显色15 min后加入终止液,在波长450 nm处测定,结果以μg/g表示。

1.2.2.3 细胞壁降解酶 PG、CX、淀粉酶活性参考曹建康等^[20]的DNS(3,5-二硝基水杨酸)比色法,在波长540 nm处测定,PG及CX活性,以μg/(h·g)表示,淀粉酶活性以mg/(min·g)表示。 β -Gal参照Phetsirikoon等^[21]方法并稍作修改,结果以μmol/(h·g)表示。

1.2.2.4 O₂⁻活性、H₂O₂和MDA含量及相对电导率

1) O₂⁻活性采用试剂盒测定 以每克组织蛋白在37℃反应40 min所抑制的O₂⁻自由基相当于1 mg VC所抑制的O₂⁻自由基的变化值为一个活力单位,结果以U/g prot表示。

2) H₂O₂含量采用试剂盒测定,称取1 g样品,加入9 mL生理盐水,离心,取10%上清液待测,在波长405 nm处测定,结果以mmol/g prot表示。

3) MDA含量 采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[22]测定。

4) 相对电导率 使用电导率仪测定,称取果皮0.5 g,加入50 mL去离子水,震荡,立即测定P₀;静置30 min后测定P₁;沸水浴15 min冷却至室温测定P₂。

$$\text{相对电导率} = (P_1 - P_0) / (P_2 - P_0) \times 100\%$$

1.2.2.5 软枣猕猴桃形态观察 HE 染色:依次将组织切片放入二甲苯 I、II 各 20 min, 无水乙醇 I、II、75%乙醇各 5 min 后自来水冲洗, 苏木素和伊红染色并脱水封片, 显微镜下观察, 图像采集。

扫描电镜观察: 取各处理组 60 d 新鲜果实, 切取赤道面果皮面积不超过 3 mm², 于固定液内常温固定 2 h, 4 ℃ 保存。固定后样品采用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 PB (pH 7.4) 漂洗 3 次, 每次 15 min, 于 1% 锇酸中室温固定 1~2 h, 同上述方法漂洗 3 次。随后, 样品组织经乙醇溶液梯度脱水并用乙酸异戊脂处理 15 min, 在样品临界点干燥及离子溅射仪喷金 30 s, 观察并采集图片。

1.2.3 数据处理 采用 Excel 2010 进行数据汇总处理与分析, SPSS 19.0 进行 Duncan's 多重差异显著性分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同处理对软枣猕猴桃微环境气体含量及果皮强度的影响

微环境气体组分直接影响贮藏期果实的生理代谢活动及保鲜效果。由图 1a 和 1b 可以看出, CK2 和 TR 处理在整个贮藏期间 O₂ 含量和 CO₂ 含量有较明显的波动, 其中 CK2 处理组 O₂ 含量维持在 17.00%~20.92%, 15 d 后 CO₂ 含量稳定在 1.63%~2.78%。TR 处理在 15 d 时 O₂ 含量降到最低点 11.22%, 同时 CO₂ 含量达到峰值 11.93%, 15 d 后 CO₂ 含量在 9.00%~11.93% 范围波动。TR 处理因果实长时间置于高浓度 CO₂ 环境中, 贮藏末期开始出现异味, 果肉褐变明显, 品质下降, 表现为气体伤害症状。相较之下, CK2 处理组可有效维持软枣猕猴桃贮藏期品质, 与孙兴盛等^[23]研究的 3% CO₂ 环境软枣猕猴桃贮藏效果最佳的结果相似。

软枣猕猴桃在贮藏期间极易发生软化而影响贮藏效果, 与此同时, 适当的软化有利于果实的成熟和风味的形成, 提高适口性^[24]。由图 1c 可以看出, 贮藏期间果皮强度呈现逐渐下降的趋势, 15 d 时降幅最大。TR 处理组果皮强度始终高于其它两组, 45 d 时各组出现明显差异 ($P < 0.05$), 60 d 时 CK1、CK2、TR 处理组果皮强度分别为 431.66,

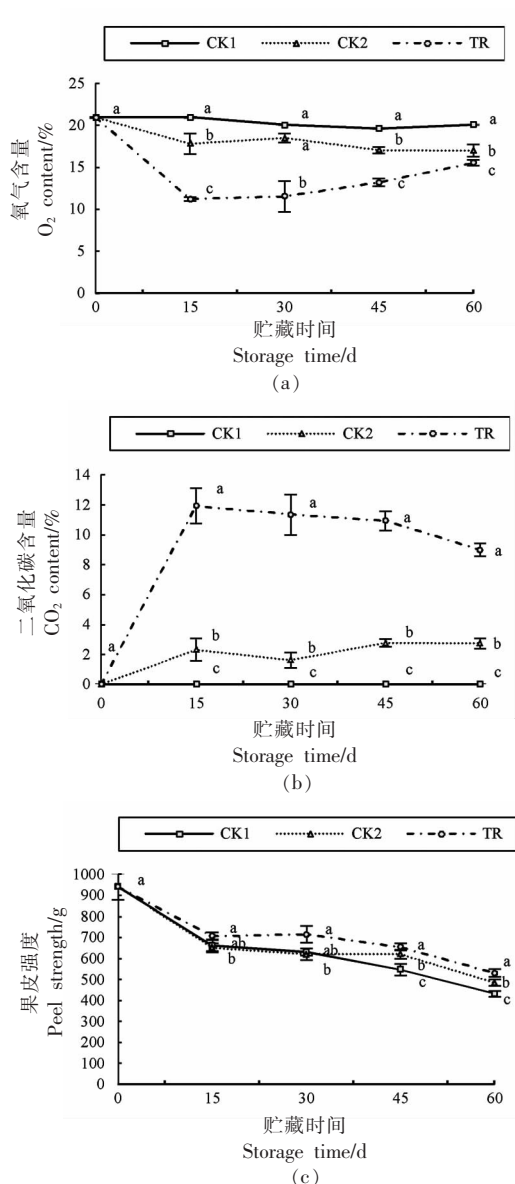


图1 不同处理对软枣猕猴桃微环境气体含量及果皮强度的影响

Fig.1 Effects of different treatments on micro environmental gas content and pericarp strength of *Actinidia arguta*

485.17 g 和 531.03 g。TR 处理果皮强度下降缓慢, 可能是由于高浓度 CO₂ 的贮藏环境影响果实后熟软化。有研究也证明, 在贮藏期间苹果受到高浓度 CO₂ 伤害后仍然可以保持较高的硬度^[25]。综合来说, CK2 处理在保持果实原有风味的基础上可较好地维持果实硬度, TR 处理虽可减缓果实软化程度, 但在贮藏末期基本失去食用价值(图 2)。

2.2 不同处理对软枣猕猴桃感官品质的影响

由图 2 可以看出,软枣猕猴桃贮藏 60 d 时,CK1 处理组软化较为严重,果心出现轻微褐变,果肉颜色加深;CK2 处理组在贮藏末期仍可以保持果实较好的感官状态,无明显褐变,保鲜效果最

好;而 TR 处理组在贮藏 60 d 时整颗果实几乎全部褐变并伴随着果肉水浸状出现,而软化现象不明显,与上文研究结果一致。综上,在高浓度 CO₂ 贮藏环境条件下软枣猕猴桃发生伤害,引起果实褐变、僵直,降低贮藏品质,丧失商品性。

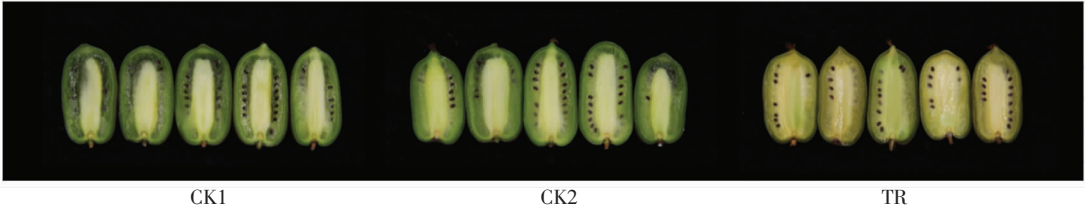


图 2 不同处理贮藏 60 d 时软枣猕猴桃感官照片

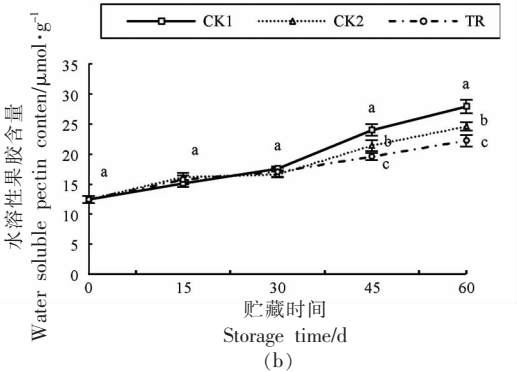
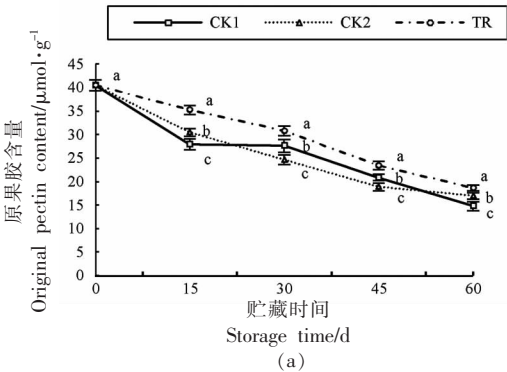
Fig.2 Sensory photos of *Actinidia arguta* with different treatments for 60 days

2.3 不同处理对软枣猕猴桃细胞壁多糖的影响

果胶、纤维素、半纤维素和少量蛋白质是构成植物细胞壁的主要成分^[26]。原果胶对细胞壁起支撑作用,果实发生软化时,水解为水溶性果胶,从而降低果实的硬度。由图 3a 所示,在贮藏初期果实原果胶含量为 40.48 $\mu\text{mol/g}$,随着贮藏时间的延长,果实中的原果胶含量逐渐下降,CK1 处理下降速度最快,60 d 时含量为 14.78 $\mu\text{mol/g}$ 。CK2 处理与 CK1 处理呈相同的下降趋势,其中 CK2 处理组原果胶含量保持较高,60 d 时仍维持在 16.95 $\mu\text{mol/g}$ 。TR 处理组相较于其它两组可减缓其含量的下降,最终维持在 18.67 $\mu\text{mol/g}$ 。贮藏期间果实水溶性果胶含量逐渐上升(如图 3b),45 d 后各组处理差异显著($P<0.05$),其中 CK1 处理组上升幅度最大,随后为 CK2 和 TR 处理组,与 0 d 相比,贮藏末期各处理水溶性果胶含量分别增加了 15.53,12.23,9.85 $\mu\text{mol/g}$ 。说明不适当的贮藏环境在引起果实高浓度 CO₂ 伤害的同时,抑制原果胶

向水溶性果胶的正常转化,阻碍软枣猕猴桃的后熟进程,影响果实完整风味的形成。

纤维素与半纤维素作为细胞壁的骨架,随着贮藏时间的延长细胞形态发生改变,胞间粘合力下降,结构松散,从而导致果实软化现象的发生^[27]。贮藏 0 d 时,果实纤维素含量为 5 059.16 $\mu\text{g/g}$,30 d 前含量下降较快,后期趋于平缓。TR 处理组纤维素含量在整个贮藏期间均显著($P<0.05$)高于其它两组处理,贮藏末期仍保持着较高的水平,60 d 时 CK1、CK2、TR 3 组纤维素含量分别为 1 594.12, 1 915.03, 2 312.34 $\mu\text{g/g}$ 。如图 3d 所示,果实半纤维素含量同样呈现下降趋势,至贮藏终点时 CK1 处理组半纤维素含量降低了 773.92 $\mu\text{g/g}$,CK2 处理组降低了 685.97 $\mu\text{g/g}$,TR 处理组降低了 617.47 $\mu\text{g/g}$,半纤维素含量下降排序为 CK1 处理组>CK2 处理组>TR 处理组。说明不适宜的气体环境影响果实纤维素及半纤维素下降,抑制果实正常软化。



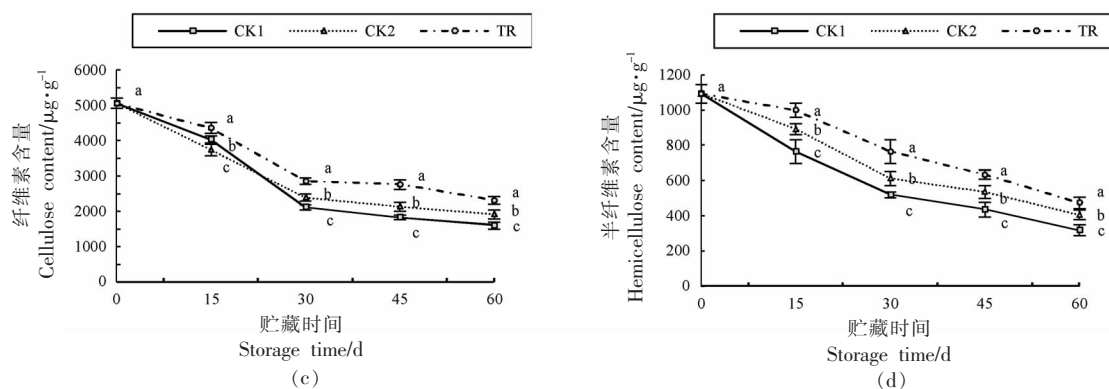


图3 不同处理对软枣猕猴桃细胞壁多糖的影响

Fig.3 Effects of different treatments on polysaccharide in cell wall of *Actinidia arguta*

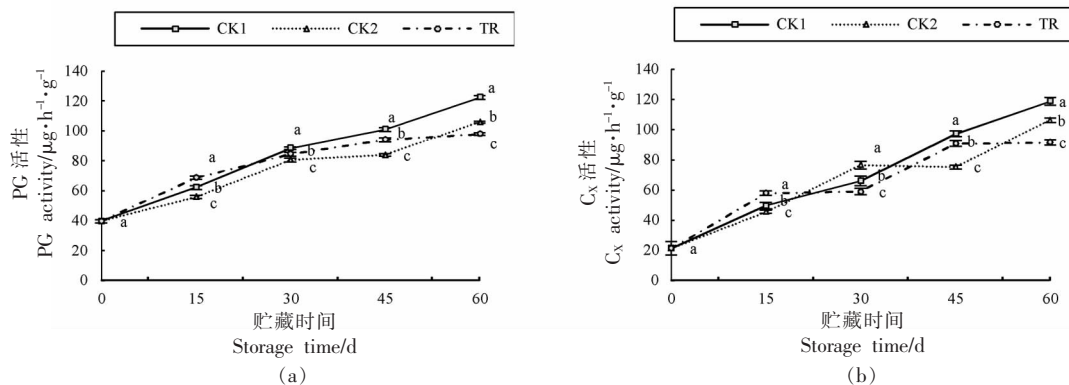
2.4 不同处理对软枣猕猴桃细胞壁降解酶的影响

PG 可将多聚半乳糖醛酸降解为半乳糖醛酸,使细胞组分变得不稳定,引起软化^[28]。贮藏期果实的 PG 活性呈上升趋势(图 4a),CK1 处理组 PG 活性显著($P<0.05$)高于其它两组,果实软化也最为严重,60 d 时 CK1 处理组 PG 含量为 $122.32 \mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$,为 CK2 处理组活性的 1.16 倍、TR 处理组的 1.25 倍,说明 TR 处理可抑制贮藏期间软枣猕猴桃的 PG 活性。

C_x 能够促进果实纤维素的降解^[29],调节果实成熟衰老进程。如图 4b 所示, C_x 活性随着贮藏时间的延长逐渐提高,60 d 时各处理活性达到最大值,果实软化明显。与 0 d 相比,贮藏末期 CK1、CK2、TR 处理组 C_x 活性分别上升了 97.54, 84.97, 70.28 $\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$,其中 CK1 上升幅度最大,说明没有气调的参与果实纤维素降解较其它处理更为快速,TR 处理组上升幅度最小,说明高浓度 CO_2 胁迫影响果实 C_x 活性,抑制纤维素降解。

β -Gal 可以降解含有支链的多聚醛酸,破坏细胞壁结构,造成果实软化。如图 4c 所示,贮藏期间其活性呈先升高后降低的趋势,CK1 及 TR 处理在贮藏 45 d 时出现活性高峰,分别为 $157.19 \mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g})$ 和 $119.17 \mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g})$,CK2 处理在贮藏 15 d 时活性达到最大值为 $159.01 \mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g})$ 。到达峰值后各处理活性均开始下降,贮藏 60 d 时各处理活性排序为 $\text{CK1}>\text{CK2}>\text{TR}$ 。说明高浓度 CO_2 胁迫可降低果实贮藏期间 β -Gal 活性,阻碍果实软化进程。

在淀粉酶的作用下淀粉可转化形成还原糖,引起果实软化,利于其风味的形成^[30]。由图 4d 可知,CK1 处理的活性高峰出现在 15 d,CK2 处理组活性高峰较 CK1 推迟了 15 d,而整个贮藏期间 TR 处理组淀粉酶活性始终低于其它两组,贮藏末期活性仅为 $1.42 \text{ mg}/(\text{min}\cdot\text{g})$,表明贮藏期间 TR 处理组软枣猕猴桃淀粉酶活性受到抑制,淀粉向还原糖的代谢转化受到影响。



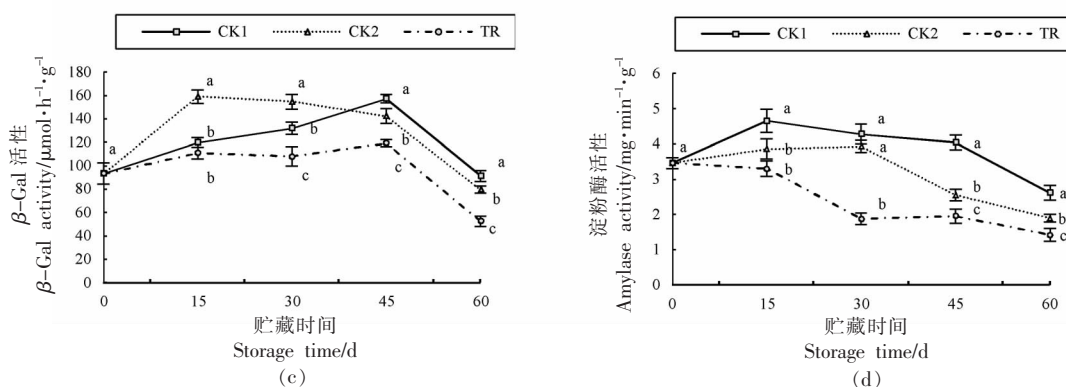


图 4 不同处理对软枣猕猴桃细胞壁降解酶的影响

Fig.4 Effects of different treatments on cell wall degrading enzymes in *Actinidia arguta*

2.5 不同处理对软枣猕猴桃 O₂⁻活性、H₂O₂ 和 MDA 含量及相对电导率的影响

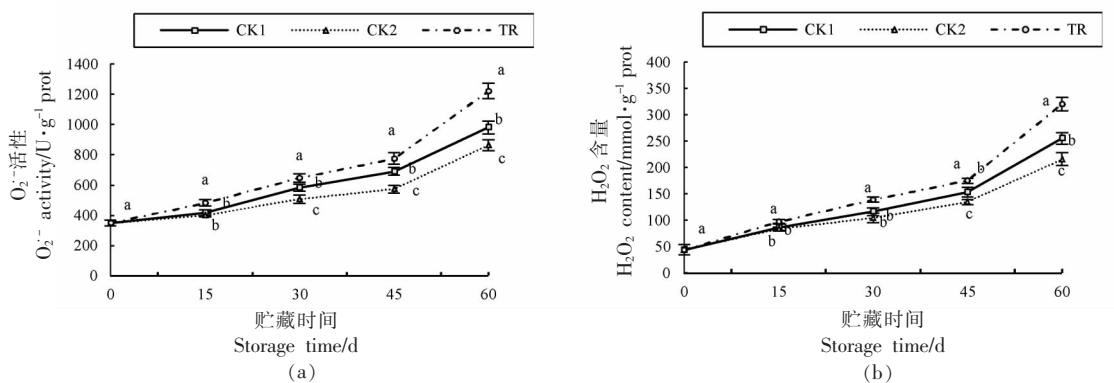
O₂⁻作为活性氧自由基之一^[31],在逆境胁迫条件下其含量不断积累,加大细胞膜透性,影响细胞组织的完整性。如图 5a 所示,贮藏期间各处理组果实 O₂⁻活性不断升高,60 d 时达到最大值,TR 处理组为 1 222.67 U/g prot,显著 ($P<0.05$) 高于其它两组处理,较 CK1 处理组高 24.69%,CK2 处理组高 41.54%。说明果实在受到高浓度 CO₂ 胁迫后组织中 O₂⁻活性增强,加重对果实的伤害。

H₂O₂ 含量过高会破坏植物组织内活性氧清除系统的代谢平衡,对细胞膜产生伤害。与 O₂⁻活性相同,H₂O₂ 含量同样呈现不断上升的趋势 (图 5b),各处理组 45 d 时上升幅度较大,60 d 时达到最大值,此时 TR 处理 H₂O₂ 含量累积为 320.86 mmol/g prot,CK1 与 CK2 处理组分别为 255.55 mmol/g prot 和 216.22 mmol/g prot,均显著 ($P<0.05$)

低于 TR 处理组。由此说明 TR 处理可引起果实 H₂O₂ 积累,破坏果实活性氧代谢平衡。

MDA 作为膜脂氧化的主要产物,可反映膜结构受损程度^[32]。由图 5c 可知,贮藏 30 d 前各处理组果实组织中的 MDA 含量积累较少,45 d 后大幅度增加,贮藏末期 CK1、CK2、TR 3 组含量分别为 8.55,1.89,9.72 nmol/g。TR 处理组含量远高 ($P<0.05$) 于其它处理组,说明该处理可严重引起膜脂过氧化,加重衰老程度。

植物处于逆境或衰老时,细胞膜易破裂,电解质大量渗出,表现为相对电导率升高。如图 5d 所示,果实细胞膜透性逐渐升高,贮藏前期各处理组间差异较小,60 d 时 TR 处理细胞膜透性为 65.13%,分别为 CK1、CK2 处理组的 1.16 倍和 1.81 倍,显著 ($P<0.05$) 高于其它两组处理。由此说明 TR 处理可引起果实相对电导率的增加,提高细胞膜透性,降低贮藏品质。



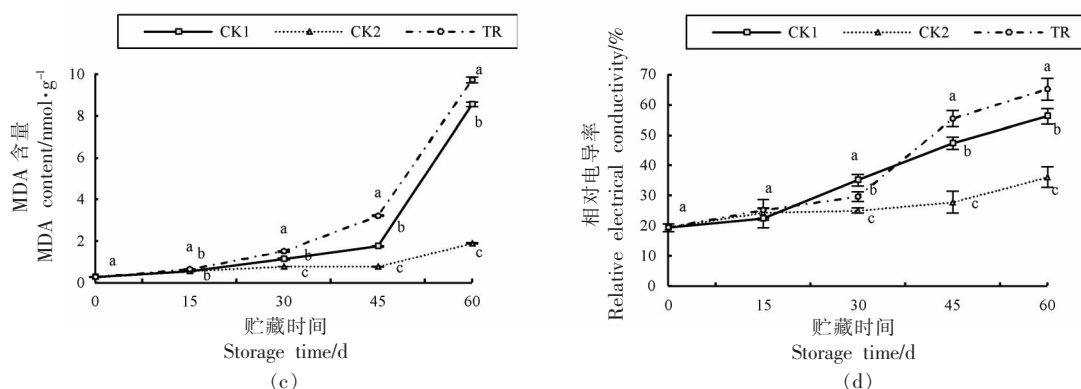


图5 不同处理对软枣猕猴桃 O_2^- 活性、 H_2O_2 、MDA 含量及相对电导率的影响

Fig.5 Effects of different treatments on O_2^- activity, H_2O_2 , MDA content and relative electrical conductivity of *Actinidia arguta*

2.6 不同处理对软枣猕猴桃果皮细胞超微结构的影响

由图 6a 可看出 60 d 时 CK1 处理组果皮细胞壁受损严重, 结构不清晰, 同时细胞组织轮廓模糊, 并且向内收缩, 使胞间空隙增加, 组织散乱, 完整性较差, 由此判断: CK1 处理组 60 d 时果实软化较为严重, 硬度保持较差。由图 6b 可看出, CK2 处理组仍可以保持较为完整的细胞壁结构, 然而, 细胞边界部分模糊破裂, 细胞间排列松散, 存在一

定程度的受损, 由此判断: 较 CK1 处理组可较好地保持果皮细胞结构, 有效延缓果实软化进程。由图 6c 可看出 TR 处理组细胞壁结构塌陷, 胞内细胞器活性降低, 此时的果皮细胞结构受到损伤, 不能进行代谢活动, 可以判断: TR 处理组果实软化现象较不明显, 与果皮强度显著 ($P < 0.05$) 高于其它处理组的结果一致 (图 1), 其能维持较高的果皮强度可能是由于高浓度 CO_2 对果实造成胁迫, 阻碍细胞壁正常降解, 果实出现僵直现象。

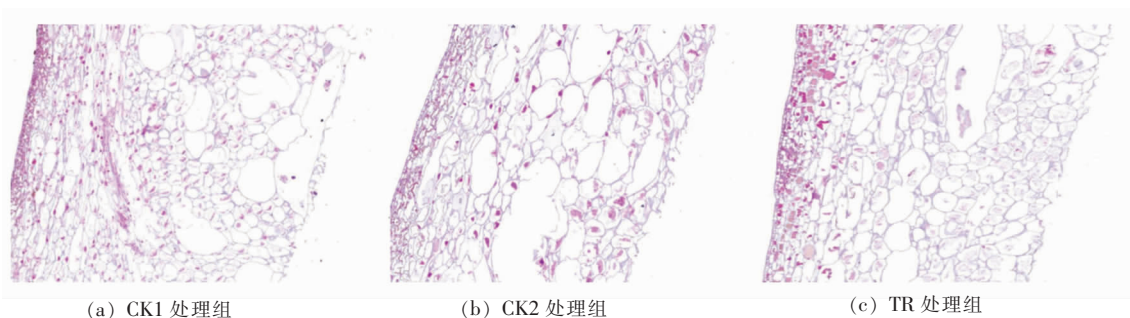
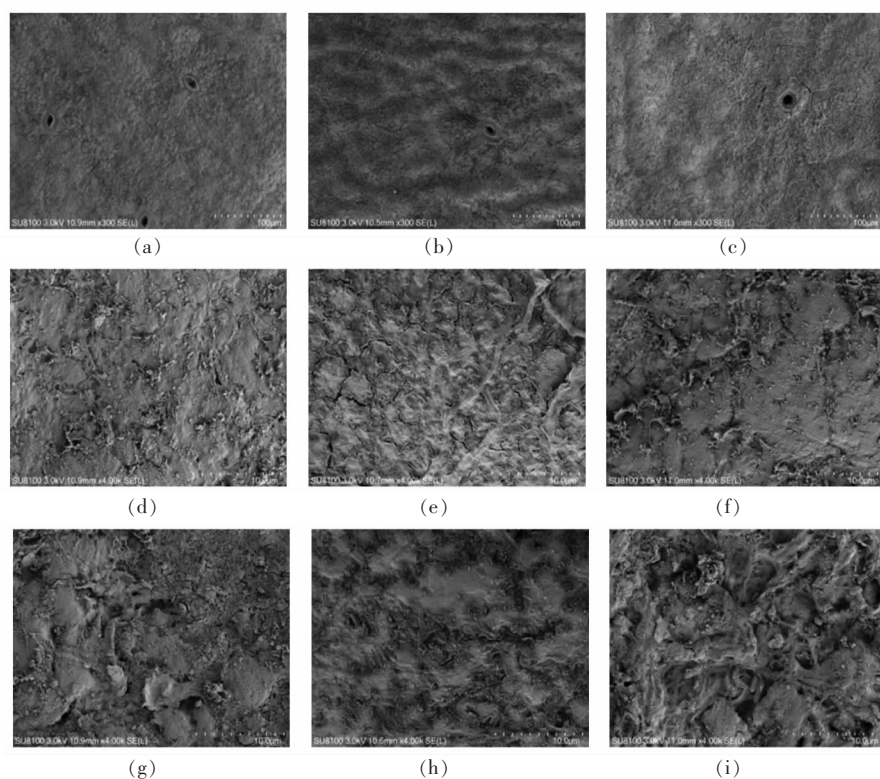


图6 不同处理贮藏 60 d 软枣猕猴桃果皮 HE 染色照片

Fig.6 HE staining photos of kiwifruit skins with different treatments stored for 60 days

由图 7a 可以看出贮藏 60 d 时 CK1 处理组果皮表面较为粗糙, 气孔呈现打开和半开状, 开口较深, 说明 CK1 处理组与其它两组相比, 失水较为严重, 果实因失水结构变得松散, 表皮出现皱缩现象, 硬度降低, 与前文分析一致。由图 7e 和 7h 可以看出 CK2 处理组贮藏 60 d 时果实表皮较为光滑平整, 细胞形态结构正常, 纹理和组织轮廓较为清晰, 分布整密, 表面蜡质结构较为粗糙, 并有明

显的蜡质板块, 角质层分布均匀且致密, 未出现明显断裂现象, 说明 CK2 处理可较好地维持软枣猕猴桃细胞结构, 贮藏效果较好。由图 7f 和 7i 可看出 TR 处理组对果皮的伤害较为严重, 相较其它两组处理, TR 处理组的软枣猕猴桃细胞表皮结构被破坏, 细胞轮廓模糊分布紊乱, 变得疏松多孔, 细胞间的连接完全被破坏, 出现断裂层, 细胞间空隙增大, 表皮发生不同程度的变形, 并有明显的角



注:CK1 处理组:(a),(d),(g);CK2 处理组:(b),(e),(h);TR 处理组:(c),(f),(i)。

图 7 不同处理贮藏 60 d 软枣猕猴桃果皮扫描电镜照片

Fig.7 Sem images of kiwifruit skins stored for 60 days under different treatments

质层堆叠和簇状蜡质晶体堆积,受损较为严重。

3 讨论

软枣猕猴桃采后易失水、软化,影响商品价值。MAP作为一种新型的食品包装技术具有安全、无毒、易操作等优点,可抑制果蔬后熟,提高贮藏品质。有学者发现MAP可以延缓武灵长枣^[33]、生菜^[34]硬度的下降。然而,由于包装材料透气性差,果实呼吸强度大或通风不良等原因会造成CO₂积累,长时间高浓度CO₂胁迫易引起伤害,影响贮藏品质。张鹏等^[35]研究发现,CO₂含量在2.6%~3.3%,O₂含量在17.6%~18.3%条件下贮藏的“长江一号”软枣猕猴桃品质最优,而CO₂含量为4.3%~5.0%,O₂含量为15.9%~16.4%条件下的果实贮藏效果最差并出现伤害症状。本研究也得到相似的结果,CK2处理可维持较高的果实硬度,品质最优,可能是由于该处理形成的气体组分较为适宜,未发生伤害;而TR处理组可延缓其果皮强度的下降,可能是因该环境CO₂含量(>9%)超过

耐受阈值,引起果实僵直,出现高浓度CO₂伤害症状,阻碍其正常软化进程,随着时间的延长伤害加重,最终丧失食用价值。

细胞壁的多糖网络结构由果胶、纤维素、半纤维素构成,它们含量的变化受各种生理活动的影响。细胞壁多糖的降解直接影响细胞的完整性,果实成熟期间,在酶的作用下细胞壁多糖发生解聚和转化,细胞壁变薄,细胞间变得松散,导致软化的发生^[36-37]。PG、Cx和 β -Gal等为主的细胞壁降解酶,在果实软化的不同阶段起不同作用^[38]。本研究发现,CK2处理组可以减慢细胞壁多糖的降解速度并抑制相关酶活性,维持细胞的坚挺,提高保鲜效果。Ortiz等^[39]研究发现,气调贮藏可以抑制部分果胶分解酶活性,对延缓果实软化有积极的作用,与本研究结果相似。本研究中TR处理可干扰原果胶降解为水溶性果胶。潘艳芳等^[40]对于杏果实的研究同样发现,在10℃条件下高浓度CO₂气调组影响原果胶向水溶性果胶的正常转化,同时TR处理阻碍纤维素及半纤维素含量的下降,抑制

PG、 $C_x\beta$ -Gal、淀粉酶活性,可能是高浓度 CO_2 胁迫引起果实代谢失调,阻碍果实采后细胞壁正常代谢,影响软化。

贮藏期间高浓度 CO_2 使果实易进入糖酵解阶段进行无氧呼吸,导致乙醇、乙醛大量积累,引起果实伤害,同时产生大量自由基,导致活性氧代谢失调,破坏细胞膜系统,增加膜透性^[41]。本研究发现,高浓度 CO_2 胁迫下的软枣猕猴桃细胞膜脂过氧化严重,果实组织中 O_2^- 、 H_2O_2 大量累积,膜解体和细胞分室化结构被破坏,TR 处理组 MDA 含量及相对电导率在贮藏 45 d 时急剧升高,显著 ($P<0.05$) 高于其它处理组,导致膜系统被破坏,发生褐变,与冉昇等^[42]对猕猴桃和赵迎丽等^[43]对酥梨在高浓度 CO_2 环境下贮藏的研究结果相同。果实超微结构的结果也表明高浓度 CO_2 使细胞结构严重损伤,变得凌乱,细胞间隙增加,损伤严重,组织产生不可逆伤害。

4 结论

在不同气调元件贮藏条件下,TR 处理组形成较高浓度的 CO_2 贮藏环境 (CO_2 含量为 9.00%~11.93%),果实出现明显的伤害症状,果肉褐变并伴有异味的出现,同时果实变得僵直,硬度下降缓慢,阻碍原果胶、纤维素及半纤维素含量下降,延缓水溶性果胶的形成,降低 PG、 $C_x\beta$ -Gal 和淀粉酶活性, O_2^- 、 H_2O_2 、MDA 及相对电导率积累升高。说明高浓度 CO_2 阻碍果实细胞壁降解,影响果实正常软化进程,自由基清除能力退化,膜脂过氧化,降低贮藏期品质,丧失商品性。

参 考 文 献

- [1] 辛广, 张博, 冯帆, 等. 软枣猕猴桃果实香气成分分析[J]. 食品科学, 2009, 30(4): 230-232
XIN G, ZHANG B, FENG F, et al. Analysis of aromatic constituents of *Actinidia arguta* sieb. et zucc fruit[J]. Food Science, 2009, 30(4): 230-232.
- [2] LI Y K, CUI W, WANG R, et al. MicroRNA858-mediated regulation of anthocyanin biosynthesis in kiwifruit (*Actinidia arguta*) based on small RNA sequencing[J]. Public Library of Science One, 2019, 14(5): e0217480.
- [3] 顾思彤, 姜爱丽, 李宪民, 等. 不同贮藏温度对软枣猕猴桃采后生理品质及抗氧化性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(13): 178-184.
GU S T, JIANG A L, LI X M, et al. Effects of different storage temperatures on postharvest physiological quality and antioxidative capacity of *Actinidia arguta*[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(13): 178-184.
- [4] KIM A N, KIM H J, CHUN J, et al. Degradation kinetics of phenolic content and antioxidant activity of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta*) puree at different storage temperatures[J]. LWT - Food Science and Technology, 2018, 89(2): 535-541.
- [5] LATOCHA P, KRUPA T, JANKOWSKI P, et al. Changes in postharvest physicochemical and sensory characteristics of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta* and its hybrid) after cold storage under normal versus controlled atmosphere[J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 88: 21-33.
- [6] YANG W T, LIU Y X, SANG Y Y, et al. Influences of ice-temperature storage on cell wall metabolism and reactive oxygen metabolism in Xinjiang (Diaogan) apricot[J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 180: 111614.
- [7] LIN Y Z, CHEN G, LIN H T, et al. Chitosan postharvest treatment suppresses the pulp breakdown development of longan fruit through regulating ROS metabolism[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165(PA): 601-608.
- [8] PARK M H, CHANG E H, YANG H J, et al. Modified atmosphere and humidity film reduces browning susceptibility of oriental melon suture tissue during cold storage[J]. Foods, 2020, 9(9): 1329-1329.
- [9] ZHAO Q X, JIN M J, GUO L Y, et al. Modified atmosphere packaging and 1-methylcyclopropene alleviate chilling injury of 'Youhou' sweet persimmon during cold storage[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2020, 24(4): 100479.
- [10] FERNANDES L, PEREIRA E L, FIDALGO M D C, et al. Effect of modified atmosphere, vacuum and polyethylene packaging on physicochemical and microbial quality of chestnuts (*Castanea sativa*) during storage[J]. International Journal of Fruit Science, 2020, 20(sup2): 1-17.
- [11] WANG L M, ZHOU Y F, WANG Y Y, et al.

- Changes in cell wall metabolism and flavor qualities of mushrooms (*Agaricus bernardii*) under EMAP treatments during storage [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2021, 29: 100732.
- [12] 王璐瑶, 帕孜丽亚·托乎提, 戴煌. 气调保鲜技术在梨贮藏保鲜中的研究进展[J]. 中国果菜, 2021, 41(7): 15-19.
- WANG L Y, TOHOTI P Z L Y, DAI H, et al. Research progress of controlled atmosphere technology in pear storage[J]. China Fruit & Vegetable, 2021, 41(7): 15-19.
- [13] 钱敏, 白卫东, 于新, 等. CO₂对果蔬采后生理的作用[J]. 食品工业科技, 2009, 30(10): 350-355.
- QIAN M, BAI W D, YU X, et al. Effects of CO₂ on postharvest physiology in fruits and vegetables[J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 30(10): 350-355.
- [14] 潘仙鹏. 果品的气调贮藏[J]. 广西园艺, 2005(2): 57-59.
- PAN X P. Controlled air storage of fruits[J]. Guangxi Gardening, 2005(2): 57-59.
- [15] XING S H, ZHANG X S, GONG H S. The effect of CO₂ concentration on sweet cherry preservation in modified atmosphere packaging title not given [J]. Czech Journal of Food Sciences, 2020, 38(2): 103-108.
- [16] BAHAR A, LICHTER A. Effect of controlled atmosphere on the storage potential of Ottomanit fig fruit [J]. Scientia Horticulturae, 2018, 227: 196-201.
- [17] CHEN J R, HU Y F, YAN R X, et al. Effect of high carbon dioxide injury on the physiological characteristics of fresh-cut garlic scapes[J]. Scientia Horticulturae, 2019, 250(1): 359-365.
- [18] 王雷, 田晓宁, 田雪婷, 等. ‘富士’苹果不同O₂/CO₂简易气调贮藏的生理特性[J]. 果树学报, 2020, 37(6): 909-919.
- WANG L, TIAN X N, TIAN X T, et al. Effect of different O₂/CO₂ proportions on the physiological characteristics of ‘Fuji’ apple fruit during modified atmosphere storage [J]. Journal of Fruit Science, 2020, 37(6): 909-919.
- [19] ZHANG R G, GUO X C, ZHANG Y L, et al. Influence of modified atmosphere treatment on post-harvest reactive oxygen metabolism of pomegranate peels[J]. Natural Product Research, 2020, 34(5): 740-744.
- [20] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 81-97.
- CAO J K, JIANG W B, ZHAO Y M. Experimental instruction of postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007: 81-97.
- [21] PHETSIRIKOON S, PAULL R E, CHEN N, et al. Increased hydrolase gene expression and hydrolase activity in the abscission zone involved in chilling-induced abscission of Dendrobium flowers[J]. Postharvest Biology & Technology, 2016, 117: 217-229.
- [22] 郝再彬, 苍晶, 徐仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004.
- HAO Z B, CANG J, XU Z. Plant Physiology Experiment[M]. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 2004.
- [23] 孙兴盛, 银徐蓉, 周福慧, 等. 气调包装对软枣猕猴桃品质的影响[J]. 包装工程, 2019, 40(19): 73-79.
- SUN X S, YIN X R, ZHOU F H, et al. Effect of modified atmosphere packaging on quality of *Actinidia arguta* [J]. Packaging Engineering, 2019, 40(19): 73-79.
- [24] TILAHUN S, CHOI H R, PARK D S, et al. Ripening quality of kiwifruit cultivars is affected by harvest time[J]. Scientia Horticulturae, 2020, 261: 108936.
- [25] 王杰, 里程辉, 王颖达. 苹果贮藏期二氧化碳伤害及贮藏建议[J]. 北方果树, 2019(3): 50-51.
- WANG J, LI C H, WANG Y D. Carbon dioxide damage during apple storage and storage suggestions [J]. Northern Fruits, 2019(3): 50-51.
- [26] JARVIS M C. Plant cell walls: Supramolecular assemblies[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 25(2): 257-262.
- [27] 张琬, 张翼翔, 叶洪, 等. 热处理对采后琯溪蜜柚果实汁胞粒化的影响及其与细胞壁代谢的关系[J]. 食品科学, 2021, 42(11): 17-25.
- ZHANG S, ZHANG Y X, YE H, et al. Effect of heat treatment on juice sac granulation of harvested Guanxi honey pumelo (*Citrus grandis* (L.) osbeck) fruit and its association with cell wall metabolism [J]. Food Science, 2021, 42(11): 17-25.
- [28] WIN N M, YOO J G, NAING A H, et al. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) treatment delays mod-

- ification of cell wall pectin and fruit softening in 'Hwangok' and 'Picnic' apples during cold storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 180: 111599.
- [29] WANG K, LI T T, CHEN S Q, et al. The biochemical and molecular mechanisms of softening inhibition by chitosan coating in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*) during cold storage[J]. Scientia Horticulturae, 2020, 271(2): 109483.
- [30] 萧允艺, 姚祥滨, 刘杰凤, 等. 跃变型果实贮藏淀粉降解研究进展[J]. 广东农业科学, 2019, 46(9): 149-156.
- XIAO Y Y, YAO X B, LIU J F, et al. Research progress in the storage starch degradation of climacteric fruit[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2019, 46(9): 149-156.
- [31] LI R J, YANG S X, WANG D, et al. Electron-beam irradiation delayed the postharvest senescence of kiwifruit during cold storage through regulating the reactive oxygen species metabolism[J]. Radiation Physics and Chemistry, 2021, 189(31): 109717.
- [32] SONG C C, LI A, CHAI Y F, et al. Effects of 1-methyleyclopropene combined with modified atmosphere on quality of fig (*Ficus carica* L.) during postharvest storage[J]. Journal of Food Quality, 2019(4): 1-9.
- [33] 刘慧, 张静林, 刘杰超, 等. 抗坏血酸结合自发气调包装对灵武长枣贮藏品质和抗氧化性的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(1): 257-263.
- LIU H, ZHANG J L, LIU J C, et al. Effect of ascorbic acid combined with modified atmosphere packaging on storage quality and antioxidant activity of Lingwuchangzao jujube fruit[J]. Food Science, 2021, 42(1): 257-263.
- [34] FIROUS M S, ALIMARDANI R, MOBILI H, et al. Effect of modified atmosphere packaging on the mechanical properties of lettuce during shelf life in cold storage[J]. Information Processing in Agriculture, 2021, 8(4): 485-493.
- [35] 张鹏, 刘振通, 李江阔, 等. 不同气调元件对软枣猕猴桃冷藏期保鲜品质及电子鼻判别的影响[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(12): 130-136.
- ZHANG P, LIU Z T, LI J K, et al. Effects of different air combination on the preservation quality and electronic nose identification of kiwi *Actinidia arguta* during cold storage[J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(12): 130-136.
- [36] CHEN C Y, NIE Z P, WAN C P, et al. Suppression on postharvest juice sac granulation and cell wall modification by chitosan treatment in harvested pummelo (*Citrus grandis* L. Osbeck) stored at room temperature[J]. Food Chemistry, 2020, 336: 127636-127636.
- [37] ARISA W, PRANEE R, KANOGWAN S. Inhibitory effects of high molecular weight chitosan coating on 'Hom Thong' banana fruit softening[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2021, 29(54): 100731.
- [38] BRUMMELL D A. Cell wall disassembly in ripening fruit[J]. Functional Plant Biology, 2006, 33(2): 103-119.
- [39] ORTIZ A, VENDRELL M, LARA I. Softening and cell wall metabolism in late-season peach in response to controlled atmosphere and 1-MCP treatment[J]. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2011, 86(2): 175-181.
- [40] 潘艳芳, 张继明, 张文涛, 等. 高 CO₂ 10 °C 气调对树上干杏采后软化的影响[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(12): 175-178.
- PAN Y F, ZHANG J M, ZHANG W T, et al. Effect of high CO₂ treatment on postharvest softening of 'Shushanggan' apricot at 10 °C[J]. Food Research and Development, 2017, 38(12): 175-178.
- [41] LUM G B, SHELPI B J, DEELL J R, et al. Oxidative metabolism is associated with physiological disorders in fruits stored under multiple environmental stresses[J]. Plant Science, 2016, 245: 143-152.
- [42] 冉昇, 高萌, 屈魏, 等. 限气包装对'绿迷一号'软枣猕猴桃采后贮藏特性的影响[J]. 西北农业学报, 2020, 29(12): 1848-1858.
- RAN B, GAO M, QU W, et al. Effects of air-limiting packaging on postharvest storage characteristics of kiwifruit 'Lü mi No.1' *actinidia arguta* fruit[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2020, 29(12): 1848-1858.
- [43] 赵迎丽, 张微, 王亮, 等. 不同 O₂ 和 CO₂ 浓度梯度对酥梨采后生理及果实褐变的影响[J]. 保鲜与加工, 2021, 21(3): 16-21.
- ZHAO Y L, ZHANG W, WANG L, et al. Effects of different O₂ and CO₂ concentration on postharvest physiology and fruit browning of 'Suli' pears[J]. Storage and Process, 2021, 21(3): 16-21.

Effects of High CO₂ Stress on Cell Wall Metabolism of *Actinidia arguta* during Storage

Chen Xiran¹, Zhang Peng^{2,3}, Jia Xiaoyu^{2,3}, Li Jiangkuo^{2,3*}

(¹Food Science College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866

²Institute of Agricultural Products Preservation and Processing Technology,

Tianjin Academy of Agricultural Sciences, Tianjin 300384

³Tianjin Key Laboratory of Postharvest Physiology and Storage of Agricultural Products, Key Laboratory of Storage of Agricultural Products, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Engineering and Technology Research Center for Preservation of Agricultural Products (Tianjin), Tianjin 300384)

Abstract To investigate the effect of high CO₂ stress on cell wall metabolism of *Actinidia arguta*. Based on the ‘Longcheng NO. 2’ as the experimental material, the air-regulated element A (CK2) and air-regulated element B (TR) are respectively pasted, and the air-regulated element CK1 is not pasted, research during the high concentration of CO₂ stress on frozen fruit peel strength, cell wall polysaccharides, cell wall degradation enzymes and reactive oxygen species (ROS), the microstructure of fruit peel in different treatment groups was analyzed on day 60. The results showed that the suitable storage environment (O₂ content 17.00%–20.92%, CO₂ content 1.63%–2.78%) was formed in CK2 group during cold storage. TR group formed a high concentration of CO₂ stress storage environment (O₂ content is 11.22%–15.55%, CO₂ content is 9.00%–11.93%). Compared with CK1 and CK2, TR group could inhibit the decrease of peel strength, affect the normal decrease of propectin, cellulose and hemicellulose contents, inhibit the increase of water-soluble pectin, and decrease the activities of polygalacturonase (PG), cellulase (C_x), β -galactosidase (β -Gal) and amylase. The activity of superoxide anion (O₂⁻), content of hydrogen peroxide (H₂O₂), malondialdehyde (MDA) and relative electrical conductivity were increased. At the same time, the structure of pericarp cells was seriously damaged, the epidermis was rough and disorderly, the cell gap was enlarged, and the tissue contour was blurred and disordered. Further analysis showed that the CO₂ content in the TR group exceeded the tolerance threshold during storage, which resulted in the slow decline of fruit rigidity and hardness, affected the process of post-ripening, inhibited the metabolic transformation of cell wall polysaccharide, the accumulation of free radicals in the tissue membrane lipid peroxidation, damaged cell structure, and lost commercial property.

Keywords *Actinidia arguta*; CO₂ damage; cell wall; ultrastructure